Aus dem Institut für Blutgerinnungswesen und Transfusionsmedizin
der Universität Düsseldorf
Direktor: Prof. Dr. Herbert Brüster

VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN ZUR AKTIVITÄT UND KONZENTRATION DES ANTITHROMBIN III BEI SYNTHESE– UND UMSATZSTÖRUNGEN DER BLUTGERINNUNG

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

DOROTHEA PLÄCKING–QUERMANN

1982

UNIV.
LEIDEN
NED.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535714_0145

Aus dem Institut für Blutgerinnungswesen und Transfusionsmedizin
der Universität Düsseldorf
Direktor: Prof. Dr. Herbert Brüster

VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN ZUR AKTIVITÄT UND KONZENTRATION DES ANTITHROMBIN III BEI SYNTHESE– UND UMSATZSTÖRUNGEN DER BLUTGERINNUNG

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

DOROTHEA PLÄCKING–QUERMANN

1982

Gedruckt mit Genehmigung der

Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez.: Prof. Dr. Günther Arnold

Referent:
gez.: Prof. Dr. Heiner Trobisch

Korreferent:
gez.: Priv.-Doz. Dr. Otto Richter

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	EINLEITUNG	1
I.1	Kontrollmechanismen der Blutgerinnung	1
I.2	Antithrombine	1
I.3	AT III bei Hepatopathien	3
I.4	Molekularer Wirkungsmechanismus des AT III	3
I.5	Disseminierte intravasale Coagulation	5
I.6	Ziel der Arbeit	9
II.	MATERIAL UND METHODEN	1o
II.1	Patientenkollektiv	1o
II.2	Laborparameter	11
II.2.1	Bestimmung der partiellen Thromboplastinzeit	11
II.2.2	Bestimmung der Thromboplastinzeit	11
II.2.3	Fibrinogenbestimmung	11
II.2.4	Bestimmung der F V-Aktivität	11
II.2.5	Bestimmung der F XIII-Aktivität	11
II.2.6	Bestimmung der AT III-Konzentration	11
II.2.7	Bestimmung der AT III-Aktivität	12
II.2.8	Bestimmung der AT III-Konzentration, nephelometrisch	12
II.2.9	Bestimmung der AT III-Konzentration, turbidimetrisch	14

		Seite
III.	ERGEBNISSE	16
III.1	Laser-Nephelometrische Bestimmungen	16
III.1.1	Zeitabhängigkeit	16
III.1.2	Eichkurven	17
III.1.3	Reproduzierbarkeit	18
III.1.4	Regressionsgerade	19
III.1.5	t-Test	2o
III.1.6	Plasmatrübung	21
III.2	Turbidimetrische Bestimmungen	21
III.2.1	Vorinkubation	21
III.2.2	Zeitabhängigkeit	22
III.2.3	Variation des Spektralbereichs	23
III.2.4	Reproduzierbarkeit	24
III.2.5	Regression	24
III.2.6	t-Test	26
III.3	Relation von Aktivität und Konzentration	26
IV.	DISKUSSION	29
V.	ZUSAMMENFASSUNG	39
VI.	ANHANG	41
VII.	LITERATUR	48

I. EINLEITUNG

I.1. Kontrollmechanismen der Blutgerinnung

Nur ein vielseitiges Kontrollsystem kann verhindern, daß der hochpotente Mechanismus der Blutgerinnung nicht ständig zu Thrombenbildung im Kreislauf führt.

Der Blutfluß sorgt für Auflösung kleinerer Fibringerinnsel, RES und Hepatozyt entfernen Fibrin und Fibrinogenkomplexe (1, 2) beziehungsweise die für die ersten Gerinnungsreaktionen verantwortlichen, löslichen aktivierten Faktoren XIa, IXa und Xa (3, 4).

Biochemisch übernehmen Kontrollfunktionen Feedbackmechanismen, Inhibitoren einzelner aktivierter Gerinnungsfaktoren (Enzyme) und die schon 1954 bekannte Gruppe der Antithrombine (5).

I.2. Antithrombine

Von den von I - VI numerierten Antithrombinen (AT) zeigten sich zwei - AT IV und AT V - als von geringer Bedeutung. AT I entspricht der Thrombinabsorption an Fibrin (5, 8). Als AT VI stellten sich die Fibrinspaltprodukte heraus.

UNIV. LEIDEN BIBL.

AT III, genannt progressives Antithrombin, weil seine Wirkung ohne Heparin langsam ist, und AT II, genannt Heparin-Cofaktor, weil seine "initiale" Thrombinwirkung bei Heparinanwesenheit wesentlich schneller ist (9, 11, 12), sind identisch (7, 1o-14).

Es ist also das AT III, das die größte, sowohl progressive - ohne Heparin - als auch initiale - bei Heparinanwesenheit - Wirkung hat, die in der Inaktivierung des Thrombins besteht (7, 9, 13, 16), daneben in der Inhibition anderer Serinproteasen - F VIIa (nur mit Heparin), F IXa (17, 18), F Xa, F XIa (17, 19) und F XIIa (2o).
Als Plasmin-Inhibitor (17, 2o) steuert das AT III das Gleichgewicht zwischen Coagulation und Fibrinolyse.
Syntheseort des Proteins ist der Hepatozyt (21), extravaskuläre Depots werden gefordert (22).
Mit Hilfe der Immunfluoreszenz gelang der Nachweis von AT III aus Gefäßendothelien (23).

I.3 *AT III bei Hepatopathien*

Die Bestimmung der AT III-Plasma-Aktivität hat sich als empfindlicher Maßstab für die Leberfunktion etabliert (24).

Nach einem Leberzellschaden ist ein Abfall der AT III-Werte immer vor, spätestens zusammen mit einer Aktivitätsminderung der Gerinnungsfaktoren zu beobachten.

Zwar bieten die Absolutzahlen nur grobe Richtlinien zur Differentialdiagnose der Lebererkrankung, doch läßt sich deutlich zeigen, daß akute Schäden zu völliger Normalisierung des AT III-Spiegels führen, während chronische persistierende Hepatitiden eine Restitution der Syntheseleistung nicht erreichen.

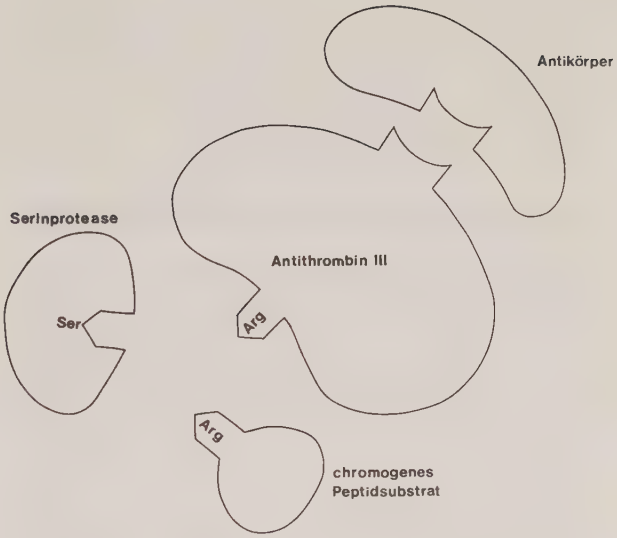
I.4 *Molekularer Wirkungsmechanismus des AT III*

Das AT III-Molekül inaktiviert Thrombin (11) und in analoger Weise Faktor Xa, IXa (1), XIa (18) und XIIa (25), indem es mit ihm einen irreversiblen Komplex bildet.

Die Bindung entsteht zwischen dem aktiven Serinzentrum des Thrombins und dem reaktiven Argenin-Rest des AT III (11). (Siehe Abb.1) Dabei wird das AT III-Molekül gespalten und verliert hierdurch seine Fähigkeit, weitere Serinproteasen zu inaktivieren, d.h. pro Molekül AT III kann nur ein Mol Protease irreversibel gehemmt werden.

Da chromogene Peptidsubstrate am Enzym dieselbe Bindungsstelle haben wie das AT III, ist im Enzym-Inhibitor-Komplex keine Aktivität mehr nachzuweisen.
Dieses beweist die irreversible Blockade des aktiven Enzymzentrums durch das AT III. Jedoch kann im Komplex das AT III-Molekül immunologisch erfaßt werden (26, 27), d.h. die Konzentration ist im Gegensatz zur Aktivität noch meßbar.

Abb.1:



I.5 Disseminierte intravasale Coagulation

Disseminierte intravasculäre Coagulation (DIC) ist eine schwere Störung des Gleichgewichtes zwischen physiologischen, ständig ablaufenden Gerinnungsprozessen und der gleichzeitigen

Entfernung der entstandenen aktivierten Gerinnungsfaktoren aus der Blutbahn, sowie der Neusynthese an Gerinnungsfaktoren, Thrombozyten und Inhibitoren. Diese Balance kann auf der anderen Seite gestört werden durch plötzliches Überangebot starker Aktivatoren der Gerinnung wie Thrombin, Gewebsthromboplastin und Schlangengift oder durch persistierende schwächere Aktivatoren wie Erythrozytenstroma bei abgeschwächter Immunantwort (31).

Auf der anderen Seite kann das Gleichgewicht durch primäres Überwiegen der Fibrinolyse gestört werden.

Zur Einschwemmung potenter Gerinnungsaktivatoren kommt es bei Komplikationen in der Geburtshilfe, bei Lungen- und Darm-Operationen, nach Schädelhirntraumen und aus den Promyelozytengranula bei akuter myeloischer Leukämie (32, 33).

Gram-negative Keime führen zu massiver DIC, die als SANARELLI-SHWARTZMANN-Phänomen beschrieben ist (34).

Das Endotoxin hat drei Angriffspunkte: Es beschädigt das Gefäßendothel und legt Collagen frei (32, 36); es aktiviert F XII (37) und fördert die Thrombozytenaggregation; es setzt aus Leukozyten Thromboplastin frei (38, 4o).

Die bei der DIC in der Mikrozirkulation entstehenden Thromben haben einerseits Gewebsischämie zur Folge, werden andererseits durch massiv einsetzende Fibrinolyse beseitigt, außerdem werden Erythrozyten bei der Kapillarpassage beschädigt. Die Erythrozytenfragmente, auch im Ausstrich nachweisbar, wirken wieder als Gerinnungsaktivatoren (siehe oben).

Der Verbrauch der Gerinnungsfaktoren I, II, V, VIII, XIII, von Thrombozyten und AT III führt zu großer Blutungsneigung.

Unmittelbar der Coagulation folgt eine Fibrinolyse, die im Verlauf parallel geht zur Gerinnung. Die Spaltung des Fibrinpolymers ist Funktion des Plasmins, das durch verschiedene Aktivatoren aus dem im Plasma vorhandenen Plasminogen entsteht. Während therapeutisch

zur Fibrinolyse Urokinase und Streptokinase eingesetzt werden, aktivieren bei der DIC F XIIa und Zerfallsprodukte aus Leuko- und Thrombozyten das Zymogen Plasminogen.

Bei der ausgeprägten DIC finden wir also erniedrigte Thrombozytenzahl; die Reaktion von Thrombin mit F I, F V, F VIII und F XIII verbraucht die Faktoren, der Prothrombinspiegel sinkt (31). Von den Übersichtstests wird zuerst die PTT verlängert.

Die aktivierten Gerinnungsfaktoren werden ständig inaktiviert. Dabei spielt die Komplexbildung mit AT III die entscheidende Rolle. Das AT III-Potential wird dabei zwangsläufig verbraucht (4o, 28).

Die Therapie der DIC besteht in frühzeitiger Gabe von gerinnungsaktivem Frischplasma, von Kryopräzipitaten, F XIII, AT III-Konzentrat und Heparin in kleiner Dosis (1oo E/kg/24 h) (53) bei intensivmedizinischer Überwachung.

I.6 Ziel der Arbeit

Ziel der Arbeit ist es, zwischen AT III-Konzentration und AT III-Aktivität eine Relation herzuleiten, die für die Verbrauchskoagulopathie typisch ist. Während bei gesunden Vergleichspersonen beide Parameter im Normbereich gefordert werden, bei Patienten mit Lebercirrhose beide Werte deutlich erniedrigt sind, liegt bei der DIC die Erwartung nahe, niedrige AT III-Aktivität zu finden, während die Konzentration des in Komplexen vorliegenden AT III-Moleküls normal ist (28, 41, 42).

Um die Konzentrationsmessung in höchstens zwei Stunden zuverlässig durchzuführen, wird eine nephelometrische und eine turbidometrische Methode gesucht, da die radialimmunologische Konzentrationsbestimmung nach MANCINI eine Inkubationszeit von 48 Stunden erfordert (43).

II. MATERIAL UND METHODEN

II.1 Patientenkollektiv

An unserem Institut durchgeführte Gerinnungsanalysen von Patienten, die nach klinischen oder laborchemischen Aspekten - in den allermeisten Fällen nach beiden - an einer DIC oder einer Lebercirrhose litten, wurden in der Studie verwertet. In jedem Fall wurden PTT, Fibrinogen, Quick-Wert und AT III-Aktivität bestimmt, weiter wurden die Aktivitäten des F V und F XIII sowie die Thrombozytenzahl berücksichtigt.
Zur Diagnosestellung wurden darüber hinaus klinische Informationen (z.B. diffuse Blutungsneigung nach gynäkologischer Operation oder Ösophagusvarizenblutung) mit einbezogen.
Aus jeder Probe wurde die AT III-Konzentration nach MANCINI bestimmt.

In der Gruppe der Synthesestörungen bei Lebercirrhose waren n = 33 Patienten. Die Zahl der Patienten mit Umsatzstörung bei DIC betrug n = 82; das Kollektiv der gesunden Bezugs-

personen, rekrutiert aus Mitarbeitern und Blutspendern, umfaßte n = 59.

II.2 Laborparameter

II.2.1 Bestimmung der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit nach LANGDELL (44)

II.2.2 Bestimmung der Thromboplastinzeit (Quick) (46) nach RIZZA und WALKER (45)

II.2.3 Bestimmung des Fibrinogens durch Hitzefällung nach SCHULZ (47)

II.2.4 Bestimmung des Gerinnungsfaktors V nach HOROWITZ (48)

II.2.5 Bestimmung des Gerinnungsfaktors XIII nach BOHN und HAUPT (49)

II.2.6 Bestimmung der AT III-Konzentration durch radiale Immundiffusion nach MANCINI (43) (Partigen-Platte, Behring-Werke AG)

II.2.7 Bestimmung der AT III-Aktivität photometrisch mit chromogenem Peptidsubstrat (Boehringer-Werke, Mannheim, "Antithrombin III", Best.Nr.: 26377o)

II.2.8 Bestimmung der AT III-Konzentration mit dem Laser-Nephelometer (Behring-Werke AG)

Prinzip:
Ein Helium-Neon-Gemisch in einer Niederdruckröhre erzeugt durch vorübergehende Anhebung der Neon-Energie und Abfall auf die niedrige Energiestufe ein monochromatisches Licht. Dies wird auf eine Immunkomplexlösung gerichtet und hier gestreut.
Die Nephelometrie (wörtlich: Nebelmessung) mißt die Intensität des Streulichts in einem bestimmten Bereich. Hier wird Vorwärtsstreuung im Raumwinkelbereich von 5^{o} - 12^{o} mit einer Photoiode gemessen.
Das angezeigte Signal wird nach einer kubischen Regression in mg/dl auf einem Tischrechner (Hewlett-Packard 9815) transformiert.

Reagenzien:

1. LN-Antiserum gegen AT III vom Kaninchen (Ch.-Nr.: 1547o9 A, Behring-Werke AG)
2. o,9%ige NaCl-Lösung
3. Plasma von venösem Blut; 1:1o mit Natrium-Citrat (o,1 mol/l) verdünnt

Membranfilter (Milex, o,22, Millipore)

Apparat:
Laser-Nephelometer, Behring-Werke AG

Vorgehen:
Das Antiserum wird 1:4, das Plasma 1:8 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt.
1oo ul Probe und 2oo ul Antiserumlösung werden in eine planparallele Einmalküvette pipettiert und 4o Minuten inkubiert.

Von jeder Bestimmung wird eine Verdünnungsreihe als Eichkurve aus gepooltem Normalplasma durchgeführt.

Normalwerte: 22,8 $\pm$ o,49 mg/dl

II.2.9 Bestimmung der AT III-Konzentration mit dem Turbidimeter (COBAS Bio, Hoffmann-La Roche)

Prinzip:
Das Licht einer Argonblitzlampe fällt durch eine Lösung, in der AT III-Moleküle und Anti-AT-III-Antikörper Komplexe gebildet haben. An ihnen wird Licht gestreut; das verbleibende, durchtretende Licht mißt eine Photoelektrode. Die Extinktion wird berechnet und als ΔE zwischen dem Leerwert und dem Meßwert ausgegeben.
Das Turbidimeter hat einen Rotorteller mit 3o Probeküvetten.
Durch Zentrifugation und senkrechte Durchstrahlung des Zentrifugates werden auch eventuelle präzipitierte AT III-Antikörper-Komplexe erfaßt.

Reagenzien:

1. LN-Antiserum gegen AT III vom Kaninchen (Ch.Nr.: 1547o9 A, Behring-Werke AG)
2. Accelerator I (Behring-Werke AG)

3. o,9%ige NaCl-Lösung
4. Plasma aus venösem Blut, das neun Teile Blut auf ein Teil Natrium-Citrat (o,1 mol/l) abgenommen wurde

Apparat:
COBAS Bio Zentrifugalanalysator
(Hoffmann-La Roche & Co. AG)

Vorgehen:
LN-Antiserum wird mit unverdünnter Accelerator-I-Lösung 1:1o gemischt und 9o Minuten bei 25°C inkubiert.
Die Plasmaproben werden 1:6 mit NaCl-Lösung verdünnt.
Automatisch werden 2oo ul AS-Acceleratorlösung und 9o ul der weiter auf 1:12 verdünnten Probe gemischt, auf 35°C erwärmt und 2omal im Abstand von 6o Sekunden gemessen, um die Trübungskinetik zu bestimmen.
Das _ E/2o Min. wird errechnet. Zugleich mit jeder Messung unbekannter Proben wird eine Eichkurve aus einer Verdünnungsreihe gepoolten Normalplasmas hergestellt. Auf ihr werden die ermittelten _E-Werte abgelesen und in mg/dl umgerechnet.

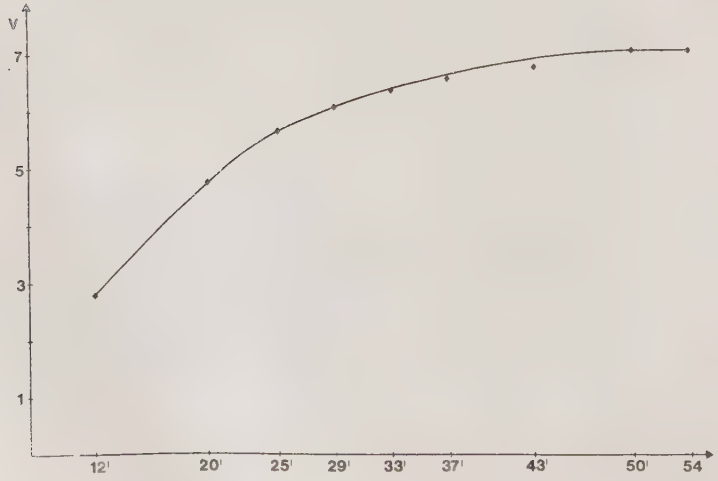
III. ERGEBNISSE

III.1 Laser-Nephelometrische Bestimmungen

III.1.1 Zeitabhängigkeit der Reaktion zwischen AT III und seinem korrespondierenden Antikörper

Die 1:8 verdünnten Proben wurden mit dem Antiserum 12 Min., 2o Min., 25 Min., 29 Min., 33 Min., 37 Min., 43 Min., 5o Min. und 54 Min. inkubiert, dann das Streulichtsignal in Volt gemessen. Es resultiert, wie aus Abb.2 zu ersehen ist, eine hyperbolische Funktion, die ihr Maximum in Abhängigkeit von der Antigen-Konzentration nach 5o Minuten erreicht.

Abb.2:

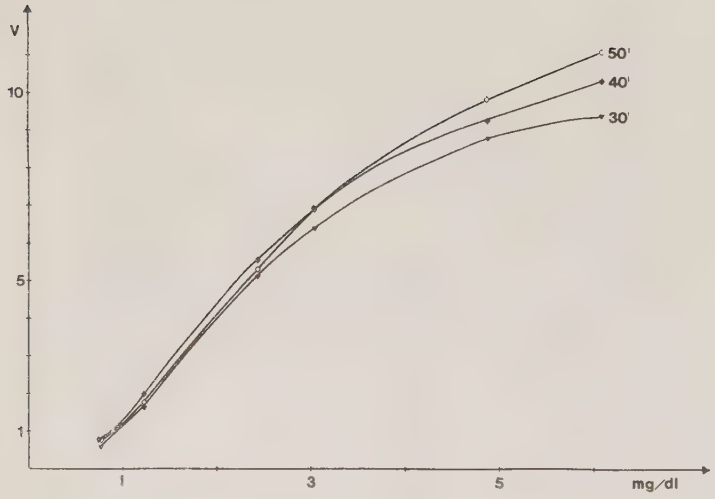


III.1.2 Eichkurven

Mit der RID wurde der AT III-Gehalt des Standards bestimmt. Für die Erstellung einer Eichkurve wurde eine Verdünnungsreihe des Standards gemessen. Die Inkubationszeiten betrugen 3o, 4o und 5o Minuten.

Konzentration (mg/dl)	Spannung (Volt)		
	3o Min.	4o Min.	5o Min.
6,1o	1o,27	8,73	11,o5
4,88	9,22	7,85	9,81
3,o5	6,95	6,11	6,89
2,44	5,56	5,25	5,34
1,22	2,oo	2,22	1,72
o,76	o,76	o,9o	o,75

Abb.3:



III.1.3 Reproduzierbarkeit in der Serie

Bei verschiedenen Inkubationszeiten wurde dieselbe Probe je achtmal gemessen.

Mittelwerte $\bar{x}$, Standardabweichungen $\bar{s}$ und Variationskoeffizienten VK zeigt die Tab.1.

Tab.1:

12'	2o'	25'	29'	33'	37'	43'	5o'	54'
2,86	4,82	5,72	6,22	6,47	6,65	6,91	7,32	7,17
2,75	4,73	5,66	5,97	6,29	6,62	6,79	7,16	7,o2
2,81	4,72	5,6o	5,99	6,4o	6,65	6,82	7,15	7,o6
2,88	4,87	5,6o	6,11	6,42	6,66	6,9o	7,16	7,17
2,82	4,81	5,76	6,13	6,45	6,54	6,75	7,o4	7,19
2,92	4,77	5,72	6,1o	6,32	6,59	6,85	7,16	6,93
2,82	4,74	5,68	6,o6	6,38	6,73	6,99	7,13	7,o1
2,67	4,94	5,8o	6,28	6,57	6,54	6,94	7,12	7,19
$\bar{x}$ 2,8o	4,8o	5,7o	6,1o	6,4o	6,6o	6,8o	7,1o	7,1o
$\bar{s}$ o,11	o,o7	o,o7	o,o9	o,1o	o,o9	o,o9	o,12	o,1o
VK 3,9%	1,5%	1,1%	1,5%	1,6%	1,3%	1,3%	1,7%	1,4%

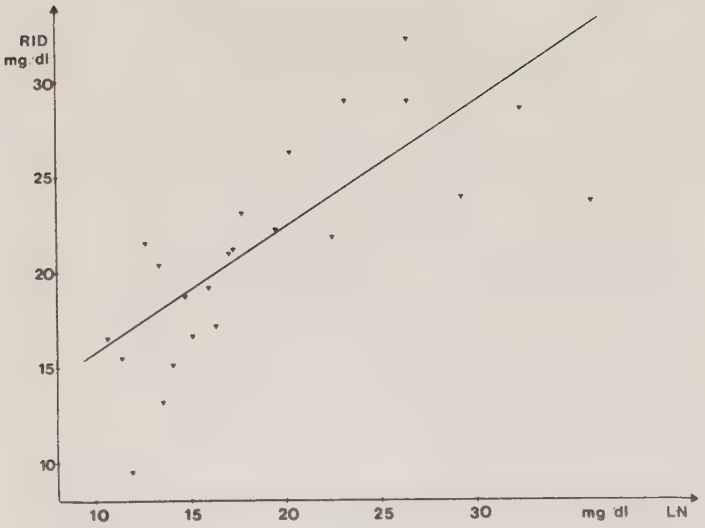
III.1.4 Regressionsgerade

Zur Prüfung der Richtigkeit verglichen wir die Ergebnisse der LN-Bestimmung mit denen der durch die Referenzmethode (RID) gemessenen.

Wie die Abb.4 zeigt, bilden die Wertepaare eine Punktwolke. Wir bestimmten die Regressionsgerade $y = 9,19 + o,66\ x$.

Für den empirischen Korrelationskoeffizienten ergab sich $r = o,71$, wobei $r = \pm 1$ exakte Anpassung bedeutet, während bei $r = 0$ keine Abhängingkeit der beiden Merkmale bestünde.

Abb. 4:



III.1.5 t-Test

Die Anwendung des t-Tests zu n - 2 Freiheitsgraden ergab bei einem Stichprobenumfang von n = 24, daß der Korrelationskoeffizient signifikant von O verschieden ist.

III.1.6 Plasmatrübung

Um Fehler durch Trübung der Plasmaproben auszuschalten, versuchten wir mit Membranfiltern das Material zu klären. Nachdem dadurch keine wesentliche Verbesserung eintrat, führten wir einen Klärungsversuch mit Frigen durch, der an der Schwierigkeit scheiterte, das Frigen bei Raumtemperatur wieder restlos aus der Probe zu entfernen.

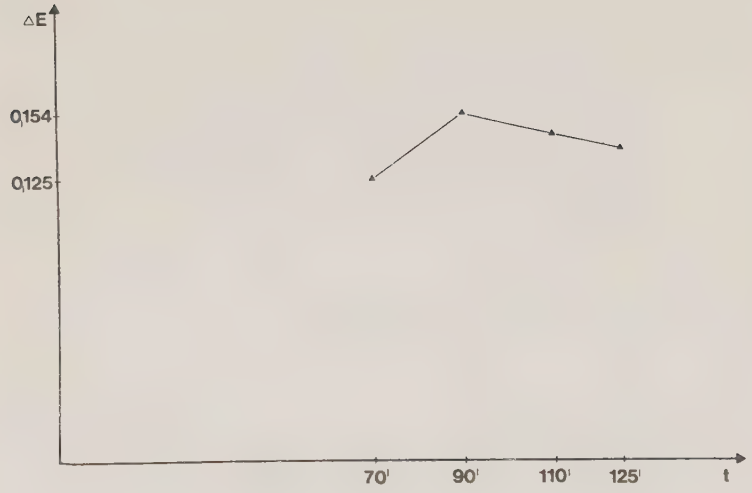
III.2. Turbidimetrische Bestimmungen

III.2.1 Effekt der Vorinkubation von Antiserum und Accelerator

Um die zeitliche Abhängigkeit einer möglichen Reaktion zwischen Antikörper und Accelerator zu messen, wurde das Gemisch aus beiden 7o, 9o, 11o und 13o Minuten vorinkubiert, dann die Plasmaprobe dazupipettiert und sofort gemessen.

Abb.5 zeigt eine optimale Antiserum-Accelerator-Reaktion bei einer Vorinkubation von 9o Minuten.

Abb.5:



III.2.2 Zeitabhängigkeit der Inkubation von Probe und Antiserum-Accelerator-Gemisch

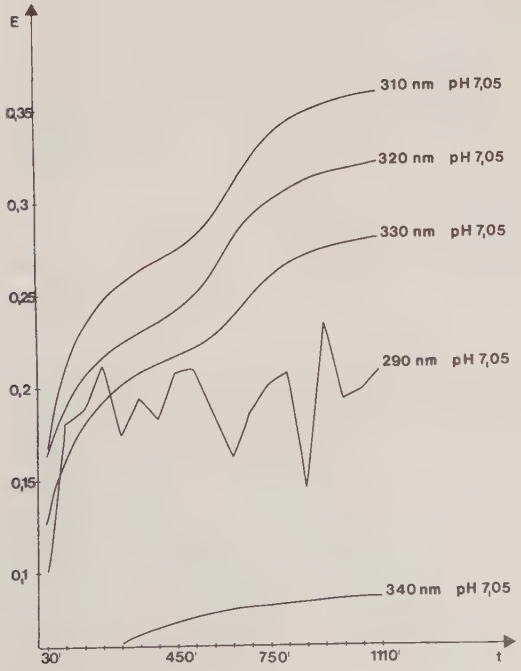
Nach Vorinkubation des Antiserum-Accelerator-Gemisches von 9o Minuten wurde die Probe dazupipettiert und nach 3o Sekunden und weiter in 6o-Sekunden-Abständen gemessen.

III.2.3 *Variation des Spektralbereichs*

Diese Messung führten wir bei den Wellenlängen 29o nm, 31o nm, 32o nm, 33o nm, 34o nm durch.

In Abb.6 wird deutlich, daß wegen Fluoreszenz die Messung bei 29o nm nicht verwertbar war. Bei 34o nm waren die Extinktionswerte und damit das $\triangle$ E sehr klein.

Abb.6:



III.2.4 Reproduzierbarkeit in der Serie

Bei verschiedenen Verdünnungen wurde die Probe je achtmal bestimmt. Aus Tab.2 gehen die Mittelwerte $\bar{x}$, die Standardabweichungen $\bar{s}$ und die Variationskoeffizienten VK hervor.

Tab.2:

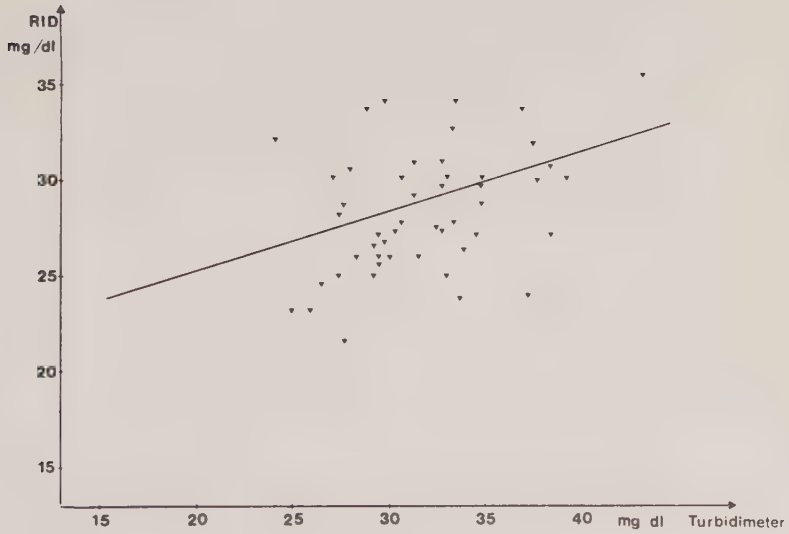
	:2	:4	:5	:6	:8
	187,45	174,17	144,12	134,59	94,47
	186,16	172,55	153,74	13o,74	99,61
	181,95	161,79	156,55	134,42	1o1,36
	183,37	179,o2	15o,76	127,43	1o1,3o
	189,8o	165,7o	15o,3o	133,2o	1oo,7o
	181,2o	166,7o	152,9o	13o,5o	98,5o
	18o,3o	178,1o	154,oo	13o,3o	97,4o
	185,6o	172,2o	146,7o	125,8o	1oo,oo
$\bar{m}$	184,43	171,3o	15o,9o	13o,9o	99,26
$\bar{s}$	3,31	6,1o	3,87	3,15	2,33
VK	1,79%	3,56%	2,56%	2,4o%	2,35%

III.2.5 Regression

Zur Prüfung der Richtigkeit verglichen wir die Ergebnisse der turbidimetrischen Bestimmung mit denen der durch die Referenzmethode (RID) bestimmten. Die Abb.7 zeigt, daß die Wertepaare

eine Punktwolke bilden, durch die wir die Regressionsgerade mit der Gleichung $y = 19{,}17 + 0{,}31\ x$ zeichneten.
Der empirische Korrelationskoeffizient ist $r = 0{,}35$.

Abb.7:



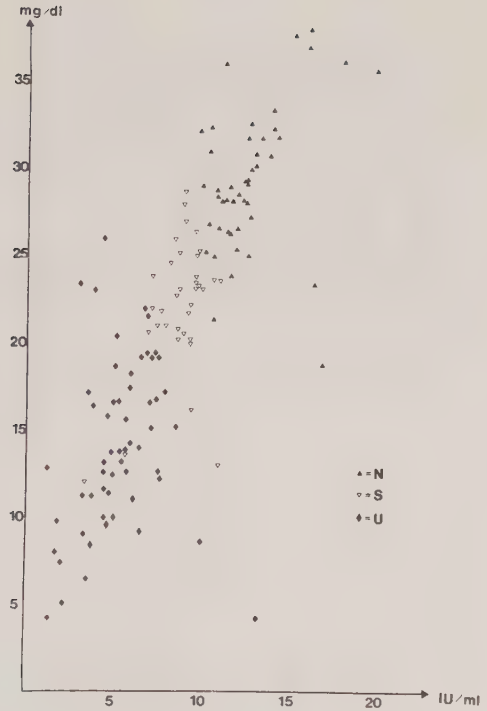
III.2.6 t-Test

Die Durchführung des t-Tests zu n - 2 Freiheitsgraden ergab bei einem Stichprobenumfang von n = 49 keine Signifikanz.

III.3 Relation zwischen Aktivität und Konzentration

Aus jeder Probe des Patientenkollektivs und der Normalpersonen wurden die AT III-Konzentration radialimmunologisch nach MANCINI und die AT III-Aktivität bestimmt. In Abb.8 wurde auf der Abszisse die AT III-Konzentration, auf der Ordinate die AT III-Aktivität abgetragen. Meßwerte der einzelnen Proben s.Anhang.

Abb.8:



N = Normalkollektiv

S = Synthesestörungen der Leber

U = Umsatzstörungen im Sinne einer DIC

Die Mittelwerte $\bar{x}$, Standardabweichungen $\bar{s}$ und Variationskoeffizienten VK in den drei Kollektiven zeigt die Tab.3.

Tab.3:

	Aktivität			Konzentration		
	$\bar{x}$	$\bar{s}$	VK	$\bar{x}$	$\bar{s}$	VK
N	11,9	2,7	o,2	27,9	5,5	o,2
S	7,8	2,6	o,3	2o,o	5,9	o,3
U	6,o	2,3	o,4	17,o	7,7	o,4

IV. DISKUSSION

Die Lasernephelometrie, die sich als schnelle und zuverlässige Methode zur Konzentrationsbestimmung gelöster Proteine gezeigt hat (5o), erwies sich auch bei der AT III-Bestimmung als gut reproduzierbar.
Die Variationskoeffizienten bei Messungen in der Serie lagen zwischen 1,1% und 1,7%.
Nach 5o Minuten Inkubationszeit war die Reaktion abgelaufen. Da das Nephelometersignal sich nicht mehr veränderte, kann man annehmen, daß die Konzentration der Komplexe aus AT III und seinem Antikörper konstant bleibt.
Die vergleichende Konzentrationsbestimmung mit RID zeigte eine signifikante Korrelation.
Die in Abb.4 (S. 2o) gezeigte Streuung entstand dadurch, daß einerseits Trübungen des Plasmas, z.B. durch Fette, falsch erhöhte Werte abgaben, andererseits ein "fall-out" von Antikörper-AT-III-Komplexen zu falsch niedrigen Werten führte.
Versuche, das Plasma durch Filtration oder Frigen zu klären, waren erfolglos.

Auf eine Ultrazentrifugation verzichteten wir im Hinblick auf unser Ziel, die Bestimmungszeit von zwei Stunden nicht zu überschreiten.

Den "fall-out"-Effekten, die durch die Präzipitation der AT-III-Antikörper-Komplexe entstehen, könnte theoretisch durch weitere Verdünnung der Probe und des Antiserums begegnet werden. Jedoch stellt gerade die sehr geringe physiologische Plasmakonzentration des AT III (zum Vergleich: AT-III-Konzentration: 2o mg/dl Plasma. Albumin-Konzentration: 4 g/dl Plasma. Das entspricht einem Verhältnis von 1:2oo.) vor das Problem, dieses Protein genau quantitativ zu bestimmen.
Die nephelometrische Methode erwies sich wegen der falsch hohen (durch Plasmatrübung) und der falsch niedrigen (durch "fall-out") als ungeeignet.
Das AT-III-Programm für das Turbidimeter wurde mit einem spezifischen Antiserum gegen AT III erprobt.

Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse war gut, mit Variationskoeffizienten in der Serie von 1,8% bis 3,6%.

Die Versuche zur Zeitabhängigkeit der Reaktion erbrachten beste Ergebnisse bei einer Vorinkubation von 9o Minuten.

Die Kinetik der Reaktion zwischen AT III und Antikörper (s.Abb.6) zeigt, daß möglicherweise 2 Antikörperpopulationen mit unterschiedlicher Avidität im Antiserum enthalten sind.

Hier sehen wir auch den Grund dafür, daß die Korrelation der Meßergebnisse mit denjenigen der Referenzmethode (RID) nicht signifikant ist.

Der Verlauf der Kurve mit ihrer zweiten Steigung und dem Nichterreichen eines Plateau innerhalb von 2o Minuten bleibt unverändert bei den untersuchten Wellenlängen wie auch bei verschiedenen pH-Einstellungen.

Längere Meßzeiten hätten das Gerät über Gebühr lange blockiert.

Außerdem sind die gemessenen Δ E mit kleiner o,25 so klein, daß diese Form der turbidimetrischen Messung abgelehnt werden mußte. Auch hier muß

die sehr kleine Plasmakonzentration des AT III verantwortlich gemacht werden. Zum Vergleich können die Immunglobulinkonzentrationen sehr gut turbidimetrisch bestimmt werden.

Im Vergleich der beiden untersuchten Bestimmungsmethoden miteinander erscheint die nephelometrische dank ihrer besseren Reproduzierbarkeit und ihrer eindeutigen Trübungskinetik als die geeignetere, sobald die Frage beantwortet ist, wie die Klärung trüber Plasmaproben schnell und sauber durchzuführen ist.

Die turbidimetrische Methode stellt nicht nur zur Diskussion, wie das Δ E/2o Min. so weit vergrößert werden kann, daß vergleichbare Meßdaten erreicht werden.
(Bei der Eichkurve haben Verdünnungen von 1:2o ein Δ E von o,o5)
Der Accelerator-Zusatz zum Antiserum wurde bereits zehnfach höher konzentriert als bei den erprobten Bestimmungen der Immunglobuline (siehe Arbeitsanweisung zum COBAS Bio).
Variation der Wellenlänge und des pH-Bereiches führten nicht zur Lösung des Problems.

Die zweite Steigung der Kurve der Kinetik, die konstant nach einem ersten Plateau bei 12 Minuten Reaktionszeit zu beobachten ist, kann nur mit dem Vorhandensein zweier Antikörperpopulationen mit unterschiedlicher Reaktionsgeschwindigkeit erklärt werden. Für die Quantitätsbestimmung mit dem Turbidimeter ist nur ein monoklonales Antiserum brauchbar.

Wir legten in diesem Stadium beide Untersuchungsmethoden beiseite und bestimmten die Proteinkonzentration mit der radialen Immundiffusion nach MANCINI, die uns bei der Laserphelometrie und bei der Turbidimetrie als Referenzmethode diente.
Die verschiedenen Bindungsstellen des AT-III-Moleküls für den immunspezifischen Antikörper und für die Serinprotease erlauben die Messungen von AT-III-Aktivität und AT-III-Konzentration. (siehe Abb.1, Seite 5)

Wir untersuchten diese beiden Parameter bei Normalpersonen, bei Patienten mit einer Proteinsynthesestörung der Leber und bei Patienten mit

einer AT-III-Umsatzstörung im Sinne einer DIC.
Auffällig war die sehr gute Korrelation der beiden Parameter in allen drei Gruppen.
Die Korrelation war linear.

Die Gruppe der Normalpersonen ließ sich deutlich im Normbereich nachweisen.

Die Mit Umsatzstörung diagnostizierten Verbrauchskoagulopathien waren bis auf wenige Ausnahmen im Bereich sowohl sehr niedriger Aktivität als auch sehr niedriger Konzentration zu finden.
Hierbei ist kritisch anzumerken, daß in die Diagnosestellung die AT-III-Aktivität selbst mit einbezogen wurde, wenn auch neben einer Reihe anderer Laborparameter (Thrombozytenabfall, Abfall der Gerinnungsfaktoren V, XIII etc.); neben Anamnese und klinischen Aspekten.
Bei den Fällen mit hoher Konzentration und niedriger Aktivität konnten erstmalig gemäß der Hypothese zirkulierende AT-III-Protease-Komplexe nachgewiesen werden.

Die als hepatogene Protein-Synthesestörung bezeichneten Fälle waren zwischen den beiden anderen Diagnosegruppen angeordnet.
Sie hatten sowohl niedrige Konzentration als auch Aktivität.

Mit Hilfe der linearen Diskriminanzanalyse versuchten wir, die vorgegebenen Diagnosegruppen nach mathematischen Gesetzen zu bestätigen, bzw. die Sicherheit zu bestimmen, mit der ein durch zwei Variablen gekennzeichneter Wert in eine der Gruppen fiel. Unsere beiden Variablen waren die AT-III-Konzentration und die AT-III-Aktivität.

Schon aus der Anschauung (Abb.8) der guten linearen Korrelation ergab sich die Vermutung, daß eine Trennung der Gruppen schon mit Hilfe je einer Variablen möglich wäre.
Tatsächlich zieht der Rechner die Konzentration als zweite Variable gar nicht heran, sondern diskriminiert mit der ersten Variablen, der Aktivität allein.
Die zweite Variable erbringt keinen Trennschärfenzuwachs.

Die Regressionslinien werden beschrieben mit

$y = 1,65x + 7,44$

und

$x = o,31y + 1,69.$

Die Ergebnisse von AT-III-Konzentration und AT-III-Aktivität in den Gruppen der Normalpersonen und der Patienten mit Protein-Synthesestörung der Leber entsprechen den Erwartungen. In linearer Korrelation liegen die ersten im Normbereich, die letzteren pathologisch weit unterhalb davon.
Dies entspricht der Tatsache, daß die cirrhotische Leber nur sehr wenig AT III synthetisiert.

Da im Falle einer DIC das AT-III-Molekül sehr schnell mit den aktivierten Gerinnungsfaktoren reagiert, sinkt seine Aktivität rasch ab.
Die Tatsache, daß der immunologische Antikörper eine spezifische Bindungsstelle hat, erlaubt die Hypothese, bei der DIC normal hohe AT-III-Konzentration zu einem Zeitpunkt zu finden, an dem die nachweisbare Aktivität schon sehr klein ist.

Wir fanden nun jedoch sowohl erniedrigte Konzentration als auch geringe Aktivität bei klinisch und laborchemisch gesicherten Fällen einer Verbrauchskoagulopathie.

Die Vorstellung, das AT-III-Molekül werde sich durch die Bindung an sein Enzym auch immunologisch verändern, widerlegen Arbeiten von DAMUS (28) und MANCINI (43).

Unser Befund ist nur so zu interpretieren, daß die Komplexe aus AT III und Serinprotease zum Zeitpunkt der Blutentnahme bereits aus der Blutbahn entfernt sind (1o, 28-3o).

Wir gingen der Spekulation nach, in Fällen, bei denen ein frühzeitiger Verdacht auf eine DIC naheliegt, (so bei gynäkologischen Operationen, Geburtshilfe, Operationen mit massiver Blutung) eine so zeitige Blutprobe zu bekommen, in der die Komplexe aus AT III und Serinprotease in der erwarteten Konzentration-Aktivität-Korrelation nachzuweisen wären.
Aber die Gruppe der vermuteten "frühen" DIC unterschied sich nicht nur nicht signifikant, sondern auch nicht tendenziell vom Gesamtkollektiv.

Die erwähnten Ausnahmefälle in der Umsatzstörungs-Gruppe, bei denen wir die hypothetische Diskrepanz zwischen hoher Konzentration und niedriger Aktivität fanden, gehörten ebenfalls nicht in die Gruppe der anamnestischen "frühen" Verbrauchskoagulopathien.

Wahrscheinlich bestimmt nicht nur die Zeit das Maß des Komplex-Abbaus in der Leber.
Solange der Zeitpunkt des DIC-Beginns nicht festzulegen ist, bleiben unsere abgeschätzten Zeitintervalle Spekulation.
Im Tierexperiment könnte man diese Frage zu klären versuchen, indem man das AT-III-Molekül mit Fluorescein isothiocyanat markiert, daraufhin, wie CHAN und LEE (23), eine DIC auslöst und die Rate der in der Leber erscheinenden Komplexe bestimmt, die hier abgebaut werden.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Das AT-III-Molekül mit seiner zentralen Stellung im Gerinnungs- und Fibrinolyse-Ablauf kann sowohl in seiner Konzentration als auch in seiner Aktivität bestimmt werden. Bei bestimmten Krankheitsbildern ändern sich diese beiden Parameter.

Wir untersuchten Protein-Synthesestörungen der Leber und Verbrauchskoagulopathien und fanden in beiden Fällen die gleichsinnige Erniedrigung von Aktivität und Konzentration. Dies entspricht bei der Lebercirrhose der Vorstellung, daß sehr wenig Protein gebildet wird, und daß dieses eine normale Aktivität hat.

Bei der DIC synthetisiert die Leber physiologische AT-III-Mengen, jedoch wird das Molekül schnell im Komplex mit seinem Enzym gebunden. Theoretisch muß ein Zeitpunkt im Verlauf der Verbrauchskoagulopathie existieren, zu dem die Komplexe im Plasma nachweisbar sind, das sich dann durch niedrige AT-III-Aktivität und hohe AT-III-Konzentration charakterisiert.

Ziel der Arbeit war es, eine schnelle und zuverlässige Methode der Konzentrationsbestimmung zu finden, neben der bewährten, 48 Stunden dauernden RID nach MANCINI, die wir als Referenzmethode anwandten.

Die Laser-Nephelometrie erwies sich als problematisch bei der noch ungeklärten Frage, wie Plasmatrübungen, z.B. durch Fette, entfernt werden können, ohne die Reaktion zu beeinflussen, und wie falsch niedrige Werte durch "fall-out"-Effekte vermieden werden können.

Die Turbidimetrie zeigte eine zweizeitige Trübungskinetik, so daß die Reaktion innerhalb der vertretbaren Meßzeit noch nicht abgelaufen war.
In einzelnen Fällen gesicherter Verbrauchskoagulopathien ließen sich die geforderten Komplexe aus AT III und Serinprotease nachweisen.

VI. ANHANG

Normalpersonen

Nr.	PTT (sec)	Quick (%)	Fibrinogen (mg/dl)	F V (%)	F XIII (%)	AT III Konz. (mg/dl)	AT III Akt. (IU/ml)
1	4o	9o	31o	85	12o	21,8	1o,4
2	39	92	4oo	88	12o	28,2	12,7
3	4o	91	41o	1oo	12o	28,2	11,7
4	38	75	29o	1o5	12o	26,2	11,6
5	38	8o	32o	95	1oo	28,2	12,3
6	37	73	32o	94	12o	33,4	14,o
7	36	82	35o	81	12o	28,2	11,o
8	37	9o	37o	1o3	12o	26,6	11,5
9	39	1oo	38o	1o7	1oo	36,o	11,2
1o	4o	1oo	31o	1o1	1oo	31,8	12,5
11	35	95	3oo	99	1oo	28,2	11,3
12	34	97	3oo	115	12o	28,2	11,1
13	4o	9o	41o	1o2	12o	3o,o	12,7
14	4o	1oo	45o	1o2	1oo	26,6	1o,7
15	32	1oo	43o	89	1oo	23,4	1o,4
16	32	1oo	31o	94	1oo	28,1	11,7
17	32	1oo	41o	97	12o	28,1	12,4
18	33	77	43o	81	12o	32,4	14,o
19	39	8o	42o	1o5	1oo	26,6	11,9
2o	38	85	29o	1o1	1oo	31,o	12,9
21	37	73	3oo	97	12o	29,4	12,5
22	4o	85	31o	114	1oo	31,8	13,3
23	4o	87	32o	1o1	12o	29,4	12,4
24	39	8o	35o	121	12o	3o,2	13,o
25	39	86	45o	13o	1oo	3o,8	13,8
26	32	9o	41o	1o1	1oo	28,8	1o,8

Nr.	PTT (sec.)	Quick (%)	Fibrinogen (mg/dl)	F V (%)	F XIII (%)	AT III Konz. (mg/dl)	AT III Akt. (IU/ml)
27	31	1oo	36o	12o	1oo	35,8	19,8
28	3o	98	3oo	1o9	1oo	36,2	18,o
29	29	98	27o	111	12o	37,o	16,o
3o	38	9o	28o	9o	12o	38,o	16,1
31	3o	1oo	29o	89	12o	37,7	15,2
32	35	1oo	4oo	81	12o	29,o	1o,o
33	35	1oo	4oo	97	12o	32,2	9,8
34	35	87	31o	79	1oo	19,8	16,9
35	42	89	42o	1o3	12o	23,4	16,4
36	41	81	29o	115	1oo	23,8	11,7
37	37	9o	37o	117	1oo	25,2	1o,2
38	34	92	43o	1o1	12o	25,o	1o,7
39	4o	99	41o	93	1oo	29,5	12,5
4o	42	98	36o	1o5	12o	26,o	1o,o
41	44	9o	38o	1o7	1oo	28,5	12,o
42	43	95	29o	99	1oo	28,2	12,3
43	42	96	29o	98	12o	23,9	11,7
44	37	1oo	31o	1o1	1oo	28,2	11,3
45	38	1oo	45o	119	1oo	28,1	11,1
46	3o	93	41o	121	1oo	28,2	11,1
47	29	87	4oo	1o1	12o	29,3	12,5
48	4o	86	27o	1o3	12o	25,2	1o,1
49	42	86	35o	97	12o	32,3	1o,4
5o	42	93	36o	89	1oo	26,2	1o,5
51	44	99	37o	93	1oo	28,o	11,2
52	37	99	39o	88	1oo	28,3	11,o
53	38	95	38o	99	1oo	28,1	11,2
54	37	93	24o	95	1oo	28,4	11,1
55	34	99	25o	1o1	12o	32,5	14,o
56	41	93	3oo	1o9	12o	27,2	12,8
57	4o	95	4oo	115	1oo	25,o	1o,6
58	42	1oo	31o	127	12o	27,1	12,7
59	38	1oo	31o	89	1oo	29,o	1o,o

Synthesestörungen der Leber

Nr.	PTT (sec)	Quick (%)	Fibrinogen (mg/dl)	F V (%)	F XIII (%)	AT III Konz. (mg/dl)	AT III Akt. (IU/ml)
1	4o	31	18o	25	1oo	12,o	3,3
2	41	33	2oo	21	75	13,o	11,o
3	4o	41	25o	33	75	2o,2	7,6
4	39	29	2oo	37	1oo	2o,2	8,4
5	45	27	18o	41	5o	13,6	5,6
6	49	31	12o	39	1oo	15,1	9,4
7	45	25	18o	33	75	2o,o	9,5
8	37	21	2oo	21	75	2o,6	6,9
9	39	37	21o	29	5o	2o,5	8,9
1o	35	39	2oo	27	1oo	2o,8	8,6
11	29	4o	25o	22	1oo	21,o	7,4
12	34	41	29o	31	1oo	21,o	7,9
13	39	45	25o	35	1oo	21,7	9,2
14	51	27	21o	21	5o	21,8	7,7
15	5o	29	12o	21	75	22,o	7,1
16	49	25	18o	17	75	22,2	9,5
17	45	3o	2oo	21	5o	22,7	8,5
18	4o	31	18o	21	1oo	23,1	7,8
19	41	6o	21o	5o	1oo	23,1	9,6
2o	41	51	2oo	47	1oo	23,1	9,9
21	39	4o	21o	31	5o	23,6	11,o
22	4o	29	18o	29	5o	23,7	1o,6
23	44	31	15o	44	1oo	23,9	7,1
24	42	33	18o	44	75	23,9	9,6
25	37	42	5o	51	5o	24,6	8,1
26	29	29	18o	29	75	25,o	9,7
27	5o	5o	2oo	51	4o	25,2	8,7
28	49	31	21o	47	75	25,4	9,9
29	44	27	2oo	33	1oo	27,o	9,o

Nr.	PTT (sec)	Quick (%)	Fibrinogen (mg/dl)	F V (%)	F XIII (%)	AT III Konz. (mg/dl)	AT III Akt. (IU/ml)
3o	42	47	18o	39	5o	28,o	8,9
31	37	4o	15o	41	5o	28,7	9,o
32	51	22	18o	17	1oo	25,4	1o,o
33	35	39	12o	4o	1oo	24,9	6,7

Umsatzstörungen im Sinne einer DIC

Nr.	PTT (sec)	Quick (%)	Fibrinogen (mg/dl)	F V (%)	F XIII (%)	AT III Konz. (mg/dl)	AT III Akt. (IU/ml)
1	5o	39	15o	58	75	4,1	1,8
2	57	4o	18o	25	5o	5,2	2,3
3	1o7	37	3o	1o	5o	8,3	1o,o
4	49	5o	111	29	1oo	6,5	4,5
5	5o	39	2o	64	4o	9,2	6,5
6	1o1	49	18o	49	75	1o,o	5,o
7	94	51	19o	61	5o	1o,o	4,9
8	6o	5o	4o	6o	5o	9,5	5,o
9	51	61	12o	58	5o	9,5	4,6
1o	49	6o	18o	59	1oo	1o,o	4,4
11	66	27	7o	25	1oo	9,o	3,3
12	12o	42	12o	4o	4o	11,o	5,4
13	59	35	1oo	21	2o	9,7	1,8
14	58	35	12o	22	3o	11,2	3,1
15	39	58	2oo	41	75	11,o	6,1
16	116	5o	18o	4o	5o	4,1	13,1
17	42	3o	18o	22	4o	11,2	3,7
18	58	31	12o	18	75	9,8	1,9
19	6o	29	3o	18	5o	8,o	1,7
2o	12o	6o	9o	51	5o	7,4	2,o
21	49	53	18o	37	4o	11,6	4,4
22	48	54	15o	45	1oo	11,3	4,7
23	56	61	14o	51	1oo	12,8	1,2
24	57	6o	4o	54	5o	12,2	7,6
25	52	52	2o	37	2o	12,4	4,9
26	51	6o	3o	4o	3o	12,6	4,4
27	51	59	12o	49	1oo	12,6	5,7
28	81	49	12o	58	2o	12,6	7,5

Nr.	PTT (sec.)	Quick (%)	Fibrinogen (mg/dl)	F V (%)	F XIII (%)	AT III Konz. (mg/dl)	AT III Akt. (IU/ml)
29	53	6o	1oo	64	5o	13,1	4,4
3o	39	53	4o	51	4o	13,2	5,4
31	49	47	18o	29	4o	8,o	1,7
32	56	6o	12o	37	5o	11,o	5,o
33	81	61	1oo	45	75	13,8	5,2
34	78	51	15o	42	4o	13,8	5,7
35	1o2	42	15o	42	4o	4,2	13,2
36	71	37	18o	21	5o	8,6	1o,o
37	1o1	29	4o	35	5o	12,6	4,4
38	12o	41	1oo	41	75	15,8	4,6
39	49	63	7o	7o	4o	19,2	7,2
4o	59	48	6o	21	3o	26,o	4,3
41	61	55	2o	19	2o	22,o	6,7
42	1o1	51	4o	35	3o	19,4	7,4
43	81	5o	1oo	42	3o	21,5	6,8
44	49	53	18o	5o	3o	22,o	6,7
45	59	6o	12o	7o	4o	23,4	3,o
46	63	37	4o	37	1oo	19,2	7,5
47	58	42	12o	31	75	9,5	5,o
48	56	31	7o	29	5o	12,6	7,5
49	84	6o	9o	21	5o	19,4	6,8
5o	1o3	55	1oo	28	5o	14,2	5,9
51	1o1	45	12o	45	5o	23,o	3,9
52	12o	51	18o	39	1oo	12,8	1,2
53	81	5o	18o	39	4o	5,o	2,1
54	59	41	2oo	28	2o	22,o	6,7
55	56	4o	18o	24	4o	19,2	6,5
56	37	28	18o	47	5o	19,4	7,o
57	29	48	12o	55	75	19,2	7,5
58	45	31	18o	6o	5o	16,4	3,8

Nr.	PTT (sec.)	Quick (%)	Fibrinogen (mg/dl)	F V (%)	F XIII (%)	AT III Konz. (mg/dl)	AT III Akt. (IU/ml)
59	61	37	15o	27	5o	8,2	3,5
6o	3o	33	12o	34	3o	12,1	7,o
61	29	49	7o	33	4o	13,9	5,8
62	33	51	4o	61	2o	19,5	7,o
63	37	6o	2o	57	2o	16,5	5,o
64	41	49	4o	2o	3o	17,2	8,1
65	27	59	1oo	19	4o	9,o	3,4
66	45	58	4o	49	4o	9,2	6,5
67	31	21	18o	51	4o	13,6	5,7
68	29	27	18o	35	4o	21,5	6,9
69	18	33	12o	36	75	19,5	6,7
7o	47	3o	18o	37	5o	16,4	3,9
71	29	4o	7o	4o	5o	17,2	3,5
72	5o	59	9o	45	75	1o,o	4,8
73	51	61	6o	57	4o	11,1	7,o
74	52	49	4o	59	3o	9,8	1,7
75	47	55	12o	51	4o	12,4	5,o
76	39	65	12o	5o	2o	11,6	4,7
77	42	39	12o	49	2o	19,4	7,5
78	33	42	4o	18	3o	19,4	6,2
79	29	55	9o	37	3o	14,2	5,9
8o	31	69	4o	51	3o	9,6	4,9
81	47	63	4o	59	4o	22,1	6,6
82	51	21	18o	21	4o	16,4	3,9
83	49	29	2oo	19	5o	5,o	2,1

VII. LITERATURVERZEICHNIS

1. SPAET,T.H.; KROPATKIN,M.
Effect of intravenous soy bean phosphatide on blood coagulation
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 95:492, 1957

2. SPAET,T.H.; HOROWITZ,H.I.
Reticuloendothelial clearance of blood thromboplastin by rats
Blood 17:196, 1961

3. SPAET,T.H.; CINTRON,J.
Clearance of blood coagulation products I in rats
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1o4:498, 196o

4. SPAET,T.H.
Studies on the behaviour of blood coagulation products I in rats
Thromb. Diath. Haemorrh. 8:276, 1962

5. FELL,C.; SEEGERS,W.H.
Differentiation of plasma antithrombin activities
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 85:159, 1954

6. BORSORDI,A.D.; BRADSHAW,R.A.
Isolation of AT III from normal and alpha$_1$-Antitrypsin deficient plasma
Thromb. Haemost. 38:474, 1977

7. ABILDGAARD,U.
Purification of two progressiv antithrombins of human plasma
Scand. J. Clin. Lab. Inv. 19:19o, 1967

8. ABILDGAARD,U.
Inhibition of the thrombin-fibrinogen-reaction by heparin
Scand. J. Haematol. 5:432, 1968

9. GERENDAS,M.
Die Thrombininaktivierung als Enzymprozeß
Thromb. Diath. Haemorrh. 4:56, 196o

1o. HENSEN,A.
Antithrombin, its metabolism and its function in blood coagulation
Thromb. Diath. Haemorrh. 9, Supplement 1, 1963

11. ROSENBERG,R.D.; DAMUS,P.S.
The purification and mechanism of action of human antithrombin-heparin-cofactor
J. Biol. Chem. 248:649o, 1973

12. ODEGARD,D.R.; TEIEN
Antithrombin III heparin-cofactor, antifactor X_a in a clinical material
Thromb. Research 8:173, 1976

13. ABILDGAARD,U.
Binding of thrombin to antithrombin III
Scand. J. Clin. Lab. Inv. 24:23, 1969

14. ABILDGAARD,U.
Heparin cofactor an antithrombin III
Thromb. Diath. Haemorrh. 33:38, 1974

15. SEEGERS,W.H.
Antithrombin III. Theory an clinical applications
Am. J. Clin. Path. 69:367, 1979

16. BLOMBÄCK,M.
Studies on thrombin inactivation
Thromb. Diath. Haemorrh. 9:368, 1963

17. OSTERUD,B.; MILLER-ANDERSON,M.; ABILDGAARD,U.
The effect of antithrombin III on the activity of the coagulation factors VII, IX and X
Thromb. Haemost. 35:295, 1976

18. ROSENBERG,R.D.; McKENNA
Inhibition of human factor IXa by human antithrombin
J. Biol. Chem. 25o:8883, 1975

19. DAMUS,P.S.; HICKS
Anticoagulant action of heparin
Nature 246:355, 1973

2o. HIGHSMITH,R.P.; ROSENBERG,R.D.
The Inhibition of human plasmin by human antithrombin-heparin-cofactor
J. Biol. Chem. 249:4335, 1974

21. DENNY,G.P.; MINOT,G.R.
The origin of antithrombin
Am. J. Physiol. 38:233, 1915

22 MONKHOUSE,F.C.
Changes of thrombin generation and antithrombin titer following massiv bleeding and transfusion in dogs
Cand. J. Biochem. Phys. 38:475, 196o

23. CHAN,V.; CHAN,T.K.
Antithrombin III in fresh and culturated human endothel cells: a natural anticoagulant from the vascular endothelium
Thromb. Research 15:2o9, 1979

24. SCHWANDNER,G.; TROBISCH,H.
Die Bedeutung des Antithrombin III bei Lebererkrankungen. Eine retrospektive Studie
Promotionsarbeit, Universität Düsseldorf, 1981

25. STEAD,N.; ROSENBERG,R.D.
Inhibition of activated Faktor XII by antithrombin-heparin-cofactor
J. Biol. Chem. 251:6481, 1976

26. NALLI,G.; MAJOLINO,I.
Antithrombin III immunoelectrophoretic pattern in DIC
Thromb. Res. 13:3o3, 1978

27. THALER,E.
Disseminierte intravaskuläre Gerinnung: Antithrombin III und Heparin
Thromb. Haematol. 1o4:74o, 1977

28. DAMUS,P.S.; WALLACE,G.A.
Immunologie measurement of antithrombin III-heparin-cofactor and alpha-2-macroglobulin in disseminated intravascular coagulation and hepatic failure coagulopathy
Thromb. Res. 6:27, 1975

29. LASCH,H.G.; HEENE,D.H.
Heparin Therapy of diffuse intravascular coagulation
Thromb. Diath. Haemorrh. 33:1o5, 1974

3o. ROSENBERG,J.S.; BEELER,D.L.
Activation of human prothrombin by highly purified human factors V and Xa in the presence of human antithrombin
J. Biol. Chem. 25o:16o7, 1975

31. WILLIAMS,J.W.
Haematology p. 1457
Mc Graw-Hill Book Co.

32. FRIEDMANN,N.J.
Hemorrhagic syndrom following transurethral prostatic resection for benign adenoma
Arch. Intern. Med. 124:341, 1969

33. GOODNIGHT,S.H.; KENOYER,G.
Defibrination after brain-tissue destruction: A serious complication of head injury
Nas. Engl. J. Med. 29o:1o43, 1974

34. SKJÖRTEN,F.
Bilateral renal cortical necrosis and the generalizad Shwartzman reaction. Review of literature and report of seven cases
Acta Pathol. Microbiol. Sand. 61:394, 1964

35. McGRATH,J.M.
The effects of endotoxin on vascular endothelium
J. Exp. Med. 129:833, 1969

36. GAYNOR,E.
The role of granulocytes in endotoxin-induced vascular injury
Blood 41:797, 1973

37. MORRISON,D.C.
Direct evidence of Hagemann Factor (F XII) activation by bacterial lipopolysaccharides (endotoxins)
J. Exp. Med. 14o:797, 1974

38. THOMAS,L.; GOOD,R.A.
Studies on the generalized Shwartzman reaction, general observations concerning the phenomenon
J. Exp. Med. 96:6o5, 1952

39. FORMAN,E.N.; ABILDGAARD,C.F.
Generalized Shwartzman reaction: Role of the granulocyte intravascular coagulation and renal cortical necrosis
Brith. J. Haematol. 16:5o7, 1969

4o. ROSENBERG,R.D.
Action and interaction of antithrombin and heparin
New Engl. J. Med. 292:146, 1975

41. MEDEN-BRITTH,G.; MILLER-ANDERSON,M.
Studies on human plasma antithrombin isolated in heparin gel
Thromb. Res. 9:369, 1976

42. BLEYL,H.; ROKA,L.
Gesamtes und aktiviertes Antithrombin - Wirkung und Nachweis
Z. Med. Lab. Diag. 2o:69, 1979

43. MANCINI,G.; CARBONARA,A.O.
Immunochemical quantification of antigens by single radial immunodiffusion
Immunochem. 2:235, 1965

44. LANGDELL,R.D.
Partial thromboplastin time techniques
in: BANG,N.U.; BELLER,F.K.; DEUTSCH,E.
Thrombosis and Bleeding Disorders
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1971,
Academic Press, New York, S. 76

45. RIZZA,C.R.; WALKER,W.
One-stage prothrombin-time techniques
in: BANG,N.U.; BELLER,F.K.; DEUTSCH,E.
Thrombosis and Bleeding Disorders
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1971,
Academic Press, New York, S. 92

46. QUICK,A.J.
Hemorrhagic Diseases and Thrombosis
2d. ed. Lea u. Febniger, Philad. 1966

47. SCHULZ,F.H.
Eine einfache Bewertungsmethode von Leberparenchymschäden (Volumetrische Fibrinbestimmung)
Acta hepatol. 3:3o6, 1955

48. HOROWITZ,H.I.
Analysis of factor V
in: BANG,N.U.; BELLER,F.K.; DEUTSCH,E.
Thrombosis and Bleeding Disorders
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1971
Academic Press, New York, S. 186

49. BOHN,H.; HAUPT,H.
Eine quantitative Bestimmung von Faktor XIII mit Anti-Faktor-XIII-Serum
Thromb. Diath. Haemorrh. 19:3=9, 1968

5o. SIEBER,A.; GROSS
Laboratoriumsblätter für die medizinische Diagnostik E.V.
Behring 3o:4o, 198o

51. SCHMITZ-HUEBNER
Determination of antithrombin III, alpha$_2$-Makroglobulin, alpha$_1$-Antiplasmin by Laser Nephelometer
J. Clin. Chem. Clin. Biochem.

52. STÜRZEBECHER,J.
Untersuchungen zur Reaktionsweise des Heparins
Folia Haematol. 1o4:731, 1977

53. STRAUB,D.
A case against heparin therapy in disseminated intravascular coagulation
Thromb. Diathes. haemor. 33:1o7, 1974

DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich meinen Eltern danken für Jahre der aufmunternden Unterstützung und meiner Schwiegermutter für die liebevolle Pflege meines Sohnes, ohne die diese Arbeit nicht zustande gekommen wäre.

LEBENSLAUF

Am 1.11.1953 wurde ich als zweites von fünf Kindern der Eheleute Eduard und Eva Pläcking, geborene Schnettler, in Wuppertal geboren.
1960 bis 1964 besuchte ich die Evangelische Volksschule Eichenstraße in Wuppertal, anschließend wurde ich in das Mädchengymnasium Am Kothen, Wuppertal-Barmen, eingeschult, wo ich 1972 das Abitur ablegte.
Bis 1973 verbrachte ich ein Jahr in den Vereinigten Staaten, wo ich an der Harvard-Universität Gelegenheit hatte, einige Kurse zu belegen.
Im Sommersemester 1974 immatrikulierte ich an der Universität Düsseldorf, wo ich im Mai 1980 mit dem 3. Staatsexamen das Studium der Human-Medizin abschloß.

Im April 1980 schloß ich die Ehe mit Herrn Dieter Quermann.
Im Juni 1980 wurde unser Sohn Christoffer-Simon, im Februar 1982 unsere Tochter Anna Laura geboren.

Seit dem 1.10.1980 bin ich als wissenschaftliche Mitarbeiterin im Institut für Blutgerinnungswesen und Transfusionsmedizin der Universität Düsseldorf tätig.